

Conceição de Fátima A. Olguin¹
Lidilhone Hamerski²
Maycon Fernando Percio³
Andressa Somensi⁴

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO
ALELOPÁTICO DOS EXTRATOS FRACIONADOS
DA RAIZ DA *VERNONIA TWEEDIANA* baker**

RESUMO: Pesquisas com plantas medicinais geralmente são iniciadas com uma investigação do seu potencial farmacológico. O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial biológico alelopático dos extratos hexânico, acetato de etila e metanólico da raiz da *Vernonia tweediana* (assa peixe), uma planta usada na medicina popular. Foram realizados os testes de toxicidade sobre *Artemia salina* (TAS), além do teste de germinação com sementes de alface (*Lactuca sativa*), usado como modelo biológico. No teste de TAS, verificou-se que somente o extrato hexânico mostrou-se bioativo (TAS<1000ppm). Entretanto, no teste de germinação, os extratos hexânico e acetato de etila inibiram o crescimento da radícula da alface sugerindo a presença de substâncias alelopáticas nestes extratos.

PALAVRAS-CHAVE: *Vernonia tweediana*; Assa-peixe; Bioensaios; Raiz.

SUMMARY: Researches with medicinal plants are usually initiated with an investigation of their pharmacological potential. The objective of this study was to investigate the biological potential and allelopathy of *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts from the root of *Vernonia tweediana* (ironweed), a plant used in the folk medicine. Brine Shrimp Lethality (BSL) test was done for testing the toxicity, as well as germination test in seeds of lettuce (*Lactuca sativa*) used as a biological model. In the BSL test, it was verified that only the *n*-hexane extract was bioactive (BSL<1000ppm). However, in the germination test, the *n*-hexane and ethyl acetate extracts inhibited the growth of the lettuce root, suggesting the presence of allelopathic substances in these extracts.

KEYWORDS: *Vernonia tweediana*; Ironweed; Bioessays; Root.

Data de recebimento: 02/11/05. Data de aceite para publicação: 26/08/06.

¹ Química. Professora Adjunta do Centro de Engenharias e Ciências Exatas – Unioeste – Campus de Toledo. Endereço eletrônico: cfolguin@unioeste.br.

² Doutora em Química Orgânica. Professora Colaboradora do Centro de Engenharias e Ciências Exatas – Unioeste – Campus de Toledo.

³ Acadêmico do Curso de Química – Centro de Engenharias e Ciências Exatas – Unioeste – Campus de Toledo.

⁴ Acadêmico do Curso de Química – Centro de Engenharias e Ciências Exatas – Unioeste – Campus de Toledo.

1. INTRODUÇÃO

As plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais deram origem à descoberta de vários medicamentos. Entre os diversos exemplos, podemos citar a aspirina, que foi descoberta a partir da salicina e da salicigenina, isoladas das cascas de *Salix Alba* L. e *Filipendula ulmaria* (BRUNETON, 1993), que apresentam propriedades antiinflamatórias e analgésicas reconhecidas e também da artemisinina, presente em *Artemisia annua*, que exerce potente atividade antimalárica (CECHINEL; YUNES, 1998).

Uma planta é uma verdadeira usina química que pode produzir milhares de substâncias diferentes, onde apenas uma ou algumas são responsáveis pela atividade terapêutica ou tóxica (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991). Dessa forma, muitos laboratórios de produtos naturais têm inserido, dentro de suas rotinas, além de isolamento, purificação e elucidação estrutural dos metabólitos secundários, diversos ensaios biológicos simples, no intuito de selecionar e monitorar o estudo fitoquímico de extratos de plantas na procura de substâncias bioativas. Dentre estes bioensaios podemos citar a toxicidade sobre *Artemia salina*, testes antifúngicos e antibacterianos, teste inseticida, etc. (CECHINEL; YUNES, 1998).

Na região oeste do Paraná as plantas medicinais ocupam um lugar de destaque junto à população. Dentre as muitas espécies utilizadas medicinalmente, o assa-peixe é utilizado na forma de infusão para o tratamento de doenças respiratórias. Oficialmente, o assa-peixe, pela Farmacopéia Brasileira, refere-se a espécie *Vernonia polyanthes*. Entretanto, outras espécies do gênero *Vernonia* são designadas por assa-peixe.

Muitas espécies do gênero *Vernonia* são utilizadas medicinalmente em alguns países da África, para o tratamento de malária, amebíase, infecções e doenças sexualmente transmissíveis (KAMBIZI, 2001; TONA, 2004). Algumas espécies já tiveram sua ação terapêutica comprovada cientificamente. Dentre estas espécies, destacamos a espécie *V. colorata*, com atividade antibacteriana e anti-inflamatória (RABE, 2002) e *V. cinérea*, com atividade analgésica, antipirética, anti-inflamatória e ação citotóxica (IWALEWA, 2003).

Uma revisão sobre as pesquisas fitoquímicas do gênero *Vernonia* revelou que o estudo se concentrou em 138 espécies, sendo 38 oriundas do Brasil. Os constituintes químicos encontrados foram triterpenos, esteróides e lignóides (TCHINDA, 2003). Entretanto, os constituintes

químicos mais comuns neste gênero são as lactonas sesquiterpênicas e flavonóides (POLLORA, 2004).

A espécie *V. tweediana* (assa-peixe) é uma espécie abundante na região oeste do Paraná, sendo facilmente encontrada em pastagens. Além da sua utilização na medicina popular, ela é um problema para as pastagens e lavouras, pois é considerada uma erva daninha muito resistente e de difícil controle. Um levantamento bibliográfico desta espécie evidenciou a deficiência de artigos relacionados ao estudo fitoquímico e até mesmo biológico desta planta. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho é avaliar a atividade biológica de seus extratos utilizando para isso bioensaios de bancada e, posteriormente, isolar e identificar seus princípios ativos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A parte aérea e a raiz da *V. tweediana* foram coletadas na região de Umuarama – PR. A identificação da planta foi realizada no Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná. A secagem da planta foi realizada ao ar livre. Preparação do extrato da raiz: Os extratos brutos da raiz (100 g) foram obtidos pelo método da maceração e remaceração, inicialmente pela extração com hexano, seguido da extração com diclorometano, acetato de etila e finalmente metanol. Cada extração foi realizada por 48 horas, sendo repetidas três vezes para cada solvente. Bioensaio com *Artemia salina*: Neste teste, cerca de 10 larvas de *A. salina* com 48 horas de eclosão foram transferidas para vidros contendo solução aquosa de sal marinho (38g/L), 1% de DMSO e o extrato nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 ppm (Meyer, et al. 1982). A contagem das larvas mortas foi realizada após 24 h. Os testes foram feitos em triplicata. Utilizou-se o método Probitos de análise para obtenção das DL_{50} , sendo considerados ativos os extratos que apresentarem DL_{50} menor que 1000 ppm. Teste de Germinação: Este teste consistiu no acompanhamento da germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*, comercial Grand Rapids) em soluções dos extratos da planta (Siqueira, et al, 2005). Dez sementes foram colocadas em placas de Petri, contendo discos de papel com soluções do extrato da planta nas concentrações de $1,25 \times 10^{-3}$, $2,5 \times 10^{-3}$, $5,0 \times 10^{-3}$ e $6,25 \times 10^{-3}$ g/mL e o branco. Todos os experimentos receberam o mesmo número de sementes e foram realizados em triplicata, em condições controladas de temperatura e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas foi contado o número de sementes germinadas e realizada a

medição das radículas. Os valores observados para cada concentração foram comparados com o branco e avaliados estatisticamente segundo análise de variância e desvio-padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a extração da raiz com os solventes em polaridades crescentes, estes foram concentrados sendo obtidos 2,74 g do extrato hexânico, 0,73 g do diclorometânico, 1,01 g do acetato de etila e 8,47 g para o extrato metanólico. Destes extratos, apenas o de diclorometano não foi submetido aos bioensaios, devido à grande dificuldade encontrada para a sua solubilização.

Bioensaio de toxicidade sobre *A. salina* (TAS): Inúmeros constituintes bioativos têm sido obtidos de extratos vegetais de plantas conhecidas como antitumorais, utilizando-se este teste na monitoração de estudos fitoquímicos. A toxicidade sobre *A. salina*, um microcrustáceo largamente utilizado na criação de peixes com fonte de vitamina A e B, também é correlacionada com atividades antifúngica, antibacteriana, entre outras (SIQUEIRA et al. 1998). Visando realizar um estudo fitoquímico biomonitorado do assa-peixe, avaliou-se inicialmente a bioatividade dos extratos hexânicos, acetato de etila e metanólico da raiz desta planta. Pode-se observar que, dos extratos avaliados, apenas o extrato hexânico foi considerado pouco ativo (TAS = 922 ppm). Os demais extratos mostraram-se inativos, pois apresentaram $DL_{50} > 1000$ ppm.

Teste de germinação: O assa-peixe é uma planta considerada uma invasora muito resistente e de difícil controle, provavelmente devido à presença de substâncias com efeito alelopático. O teste de germinação com *L. sativa* (alface) é um modelo amplamente utilizado para avaliar o potencial aleloquímico de extrato da planta ou de substâncias isoladas. Foram submetidos ao teste de germinação com sementes de alface, os extratos hexânico e de acetato de etila. Como pode ser observado na Figura 1, em todas as concentrações testadas para cada extrato, houve uma inibição do crescimento das radículas. Este efeito foi mais pronunciado em altas concentrações.

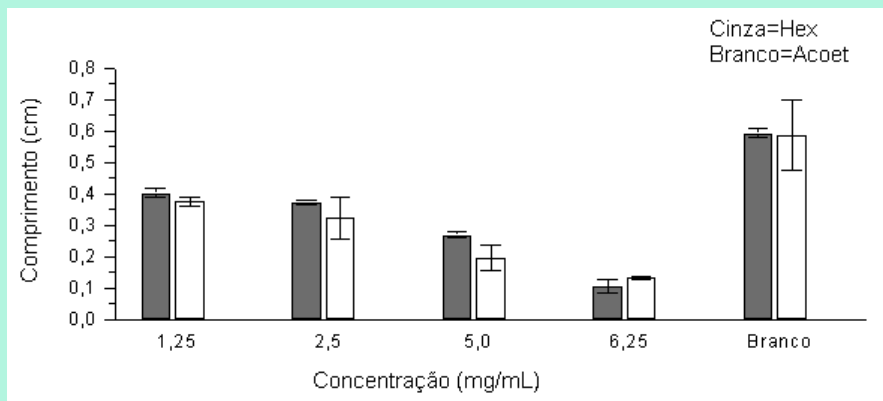


FIGURA 1 - Efeito dos extratos hexânico e acetato de etila sobre o crescimento das radículas e hipocóticós de semente de alface (n = 150; p = 0,05; ANOVA).

Os resultados obtidos neste teste sugerem a presença de substâncias com ação alelopática nestes extratos. Quanto ao extrato metanólico, este foi submetido ao teste de germinação, entretanto, em nenhuma das concentrações testadas foi verificado uma inibição da germinação da semente de *L. sativa*. Iniciou-se uma investigação fitoquímica dos extratos bioativos com o objetivo de identificar as substâncias responsáveis pelo efeito alelopático.

4. CONCLUSÕES

O extrato hexânico da raiz apresentou fraca toxicidade para *A. salina* (TAS = 922 ppm), sugerindo a presença de substâncias bioativas neste extrato. Quanto ao teste de germinação, foi possível verificar a ação alelopática dos extratos hexânico e acetato de etila no crescimento das radículas da *L. sativa* (alface), indicando, dessa maneira, que estes extratos podem possuir substâncias com atividade alelopática. Foi verificado também que o extrato metanólico não apresenta atividade alelopática.

5. REFERÊNCIAS

- AKIHISA, T.; HAYASHI, Y.; PATTERSON, G. W.; SHIMIZU, N.; TAMURA, T. *4á-Methylvernosterol and other sterols from Vernonia anthelmintica sedes*. *Phytochemistry*, v. 31, 1759-1763, 1992.
- BRUNETON, J. *Pharmacognosie et Phytochimie, Plantes médicinales, techniques et documentation*. Paris: Lavoisier, 1993.
- BURIM, V. R.; CANALLE, R.; LOPES, J. L. C.; TAKAHASHI, S. *Genotoxic Action of the Sesquiterpene lactone glaucolide B on mammalian cells in vitro and in vivo*. *Genetics and Molecular Biolog.*, 22, 3, 401-406, 1999.
- CECHINEL, V. F.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím. Nova*, 21(1) 99-105, 1998.
- CIOFFI, G.; SANAGO, R.; DIALLO, D.; ROMUSSI, G.; DE TOMMASI, N. *New compounds from the extract of Vernonia colorata leaves with anti-inflammatory activity*. *J. Nat. Prod.* v. 67, 389, 2004.
- HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. *Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine*. *Phytochemistry*, 30, 3864, 1991.
- HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; KROMHOUT, D. *Antioxidant flavonols and coronary heart disease risk*. *Lancet* 349: (9053) 699-699, 1997.
- HAMILL, F. A.; APIO, S.; MUBIRU, N. K.; MOSANGO, M.; BUKENYA-ZIRABA, R.; MAGANYI, O. W.; SOEJARTO, D. D. *Traditional herbal drugs of southern Uganda*, *I. J. of Ethnopharmacology*, 70, 281-300, 2000.
- IWALEWA, E. O.; IWALEWA, O. J.; ADEBOYE, J. O. *Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory effects of methanol, chloroform and ether extracts of Vernonia cinerea less leaf*. *J. of Ethnopharmacology*, v. 86, p. 229, 2003.
- KAMBIZI, L.; AFOLAYAN, A. J. *An ethnobotanical study of plants used for the treatment of sexually transmitted diseases (njovhera) in Guruwe District, Zimbabwe*. *J. of Ethnopharmacology*, v. 77, 5, 2001.
- KELMANSON, J. E.; JÄGER, A. K.; VAN STADEN, J. *Zulu medicinal plants with antibacterial activity*. *J. of Ethnopharmacology*, v. 69 (3), 241, 2000.
- KUO, Y-H.; KUO, Y-J.; YU, A-S.; WU, M-D.; ONG, C-W.; KUO, L-M. Y.; HUANG, J-T.; CHEN, C-F.; LI, S-Y. *Two novel sesquiterpene lactones, cytotoxic vernolide-A and B from Vernonia cinerea*. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 51, 425-426, 2003.

MARTINS, R. E.; CASTRO, M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas Medicinais. 2 ed. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 1998.

MEYER, B. N.; FERRIGINI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; Mclaughlin, J. L.; *Planta Medica*, 45, 31, 1982.

OLIVEIRA, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, A. L.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre; Florianópolis: Editora da Univ. Federal do Rio Grande do Sul; Editora da Univ. Federal de Santa Catarina, 1999.

POLLORA, G. C.; BARDÓN, A.; CATALÁN, C. A. N.; GRIFFIN, C. L.; HERZ, W. *Elephantopus-type sesquiterpene lactones from a second Vernonanthur species, Vernonanthur lipoensis*. *Biochemical Systematics and Ecology* 32, 619, 2004.

RABE, T.; MULLHOLLAND, D.; VAN STADEN, J. *Isolation and identification of antibacterial compounds from Vernonia colorata leaves*. *J. of Ethnopharmacology*, v. 80 (1), 91, 2002.

SIQUEIRA, J.M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmani* – *Annonaceae*, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. *Química Nova*, v 21(5), 557, 1998.

SIQUEIRA, J. M.; GRASSI, R.F.; RESENDE, U. M.; SILVA, M.; MACEDO, M. L. R.; BUTERA, A. P.; SAFFRAN, F. P. Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina* – “Ciganinha” – *Bignoniaceae*, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. *Química Nova*, v 28(2), 199, 2005.

TCHINDA, A. T.; TANE, P.; AYAFOR, J. F.; CONNOLLY, J. D. *Stigmastane derivatives and isovaleryl sucrose esters from Vernonia guineensis* (Asteraceae). *Phytochemistry*, v. 63, 841-846, 2003.

TONA, L.; CIMANGA, R. K.; MESIA, K.; MUSUAMBA, C. T.; DE BRUYNE, T.; APERS, S.; HERNANS, N.; VAN MIERT, S.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A. J. *In vitro antiplasmodial activity of extracts and fractions from seven medicinal plants used in the Democratic Republic of Congo*, *J. of Ethnopharmacology*, 93, 27-32, 2004.

Sistema de Acesso à Biblioteca Eletrônica de Revistas
www.unioeste.br/saber